

学位論文内容の要旨

| 論文提出者氏名 | 論文審査担当者 |
|---|--|
| 中筋 一夫 | 主査 教授 河野 公一 副査 教授 勝岡 洋治 副査 教授 窪田 隆裕 副査 教授 林 秀行 副査 教授 田窪 孝行 |
| 主論文題名 Urinary and Serum Titanium Assessment as an Indicator of Exposure to Ammonium Citratoperoxotitanate (IV) and Its Influence on Renal Function (尿中及び血清中チタン チタンペルオキソクエン酸アンモニウムの曝露指標としての評価と腎機能への影響) | |
| 学位論文内容の要旨 | |
| <p>【目的】 Ammonium Citratoperoxotitanate (IV)(商品名:TAS-FINE)は水に溶解するチタン(Ti)化合物として知られ、有機溶媒を含んでおらず、有毒ガスも発生しないため、主に光触媒膜の原料として需要が伸びている。一般に Ti 化合物は消化管からの吸収は低く、毒性も低いとされているが、動物実験では水に溶解する Ti 化合物は容易に消化管から吸収されるという報告もある。TAS-FINE はビル外壁塗装のスプレーコーティングを中心に急速に用途が拡大しており、経口的・経鼻的に曝露する機会は今後増大すると予想される。しかし、未だ曝露事例や中毒症例の報告はなく、曝露指標や生体影響の評価方法も確立されていない。そこで今回、まず ICP 発光分析法を用いた簡便な血清中及び尿中 Ti の測定法を確立した。次いで、水に溶解した TAS-FINE 曝露動物実験モデルを作製し、ラットにおける LD₅₀(24h)を決定し、経口曝露した場合の 24 時間後血清中 Ti 濃度及び 24 時間尿中 Ti 排泄量の曝露指標としての有用性を検討し、さらに腎機能への影響も検討した。</p> <p>【方法】 生体試料中 Ti の主な測定法として、原子吸光法、ICP 質量分析法、ICP 発光分析法などがある。原子吸光法の欠点は、Ti 測定下限値が 100 μg/L と高く、さらにキュベットに特殊コーティングが必要な事である。ICP 質量分析法の欠点は、強酸溶解、灰化、希釈等の複雑な前処理が必要な事である。ICP 発光分析法の欠点も同様であるが、他の金属元素の測定では前処理が希釈のみで可能であったとする報告がなされていたため、今回の Ti 測定は ICP 発光分析法による検量線で行った。和光純薬社製 1000 mg/L Ti 標準溶液を 18.25MΩcm 超純水にて溶解し、0, 50, 100, 200, 500 μg/L の5種類の濃度を Ti 標準液とした。ICP 発光分析法における Ti の特異的波長として、334.941, 336.121, 337.280, 323.452, 334.904nm が知られているが、各波長の S/B 比(信号バックグラウンド比)、S/N 比(信号ノイズ比)を測定し、最適波長を求めた。血清は同純水にて 20 倍に、尿は 50 倍に希釈し、50, 100, 200, 300, 400, 500 μg/L に溶解した Ti 標準液を各々に添加し、回収率で定量精度を、変動係数で再現性を評価した。次に、10 週齢 SPF 雄性ウイスターラット(平均 300g)に精製水 2ml で溶解した TAS-FINE を各 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0g 経口投与し、LD₅₀(24h)をプロビット法にて求めた(n=10)。</p> | |

LD₅₀の0%(controls), 5%(group A), 10%(group B), 20%(group C)を精製水 2ml に溶解し同ラットに経口投与後、代謝ケージに留置し、24時間蓄尿、24時間後に採血を施行した(n=10)。また、LD₅₀の20%を精製水 2ml に溶解し同ラットに経口投与後、代謝ケージに留置し、0.5, 1, 7, 14, 21 日目に採血、蓄尿を施行した(group D)(n=5)。以上より得た検体から、血清中 Ti 濃度及び尿中 Ti 排泄量、24時間クレアチニンクリアランス(24h-CCR)、尿中 α_1 -MG、尿中 NAG を測定した。

【結果】

334.941nm が最も高い S/B 比を示したため、最適波長と定めた。また、測定下限は 28.8 μ g/L であった。0-500 μ g/L の濃度範囲では、20 倍希釈した血清の回収率は 75.7-101.9%、変動係数は 0.48-1.62%、50 倍希釈した尿は各々 74.3-98.9%、0.20-5.52%と信頼できる数値であった。また、LD₅₀(24h)は 7.97g/kg B.W.であった。

投与量(x)と24時間後血清中 Ti 濃度(y₁)及び24時間尿中 Ti 排泄量(y₂)との間に次の方程式が成立し、共に強い正の相関関係が認められた。

$$y_1=41.7x (r=0.97)$$

$$y_2=1.89x (r=0.95)$$

TAS-FINE は投与後 24 時間以内に、尿中に投与量の 0.189%が排泄され、血清中及び尿中 Ti 半減期は各々 3.78 \pm 1.28 日、2.19 \pm 0.09 日であった。投与後7日目に於いて、24h-CCR の低下と尿中 NAG の上昇が有意差をもって認められた。

【考察と結語】

ICP 発光分析法による血清中及び尿中 Ti 測定法は、0-500 μ g/L の範囲であれば、前処理として血清を 20 倍、尿を 50 倍、それぞれ精製水で希釈するだけで可能である事が、各々の定量精度と再現性により確認された。次に、経口投与された TAS-FINE は、消化管からの吸収は低いと思われたが、TAS-FINE 投与量と 24 時間後血清中 Ti 濃度及び 24 時間尿中 Ti 排泄量との間には強い正の相関関係が認められたことから、曝露指標として共に有用であると思われた。さらに半減期に関しては、血清中 Ti 濃度の方が尿中 Ti 排泄量より長いので、慢性曝露の指標には前者がより有用と考えた。また、大量投与群において、投与後7日目に腎機能の指標に有意な変化を認めた。このことは、同群における遅発性の腎機能障害を示唆している。よって、TAS-FINE の急性大量曝露の際には長期間、腎機能の経過観察が必要であると思われた。血中に取り込まれた Ti はトランスフェリン等の蛋白成分と結合するという報告がある。これらの分子量では腎糸球体基底膜を通過できないため血清中 Ti と尿中 Ti の半減期に差が生じたのではないかと推察した。また、この結合物を抗原とする免疫反応が、有害金属における膜性腎症の発生機序のように、腎機能障害を惹起し、24h-CCR の低下と尿中 NAG の上昇を招いたのではないかと推考した。

今回の実験から、ICP 発光分析法による Ti 分析法を確立し、曝露指標としての血清中及び尿中 Ti 濃度測定の有用性を証明すると共に、遅発性の腎機能障害の危険性を提起した。

審査結果の要旨および担当者

| 報告番号 | 乙 第 号 | 氏 名 | 中筋 一夫 |
|--|-------|--|-------|
| 論文審査担当者 | | 主 査 教授 河 野 公 一 副 査 教授 勝 岡 洋 治 副 査 教授 窪 田 隆 裕 副 査 教授 林 秀 行 副 査 教授 田 窪 孝 行 | |
| 主論文題名 Urinary and Serum Titanium Assessment as an Indicator of Exposure to Ammonium Citratoperoxotitanate (IV) and Its Influence on Renal Function (尿中及び血清中チタン チタンペルオキソクエン酸アンモニウムの曝露指標としての評価と腎機能への影響) | | | |
| 論文審査結果の要旨 | | | |
| <p>Ammonium Citratoperoxotitanate (IV)(商品名:TAS-FINE)はチタン(Ti)を含有し、水に溶解する光触媒膜原料である。近年はビル外壁塗装を中心とする需要が多いが、その生体影響は報告例がない。</p> <p>申請者はまず生体試料中 Ti 濃度測定法を確立し、さらに TAS-FINE 曝露動物を用いて曝露指標や生体影響を検討した。Ti 測定は ICP 発光分析法による検量線で行い、測定の信頼性は Ti 標準液による Ti 添加回収試験から回収率と変動係数で評価した。TAS-FINE のラットにおける LD₅₀(24h)をプロビット法にて算出し、その 0%, 5%, 10%, 20%量を経口投与後、24 時間後血清中 Ti 濃度、24 時間尿中 Ti 排泄量を測定した。また LD₅₀ の 20%量を経口投与後 0.5, 1, 7, 14, 21 日目に血清中 Ti 濃度及び尿中 Ti 排泄量、24 時間クレアチンクリアランス(24h-CCR)、尿中 NAG の測定を行った。</p> <p>Ti 添加回収試験の結果、0-500 μg/L の濃度範囲では、20 倍希釈した血清の回収率は 75.7-101.9%、変動係数は 0.48-1.62%、50 倍希釈した尿は各々 74.3-98.9%、0.20-5.52%と、共に信頼できる数値であった。TAS-FINE の LD₅₀(24h)は 7.97g/kg B.W.であり、TAS-FINE 投与量と 24 時間後血清中 Ti 濃度及び 24 時間尿中 Ti 排泄量との間には各々、強い正の相関関係を認めた。投与後 7 日目には、24h-CCR の低下と尿中 NAG の上昇が有意差をもって認められた。</p> <p>申請者は ICP 発光分析法による Ti 分析法を確立し、曝露指標としての血清中及び尿中 Ti 濃度測定の有用性を証明すると共に、遅発性の腎機能障害の危険性を提起した。本研究における成果は TAS-FINE 曝露時の曝露指標や生体影響を検討した初めての報告であり、きわめて意義が高いと考えられる。</p> <p>以上により、本論分は本学学位規定第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Biological Trace Element Research 110(2):119-131, 2006</p> | | | |